

平成19年1月

佐々木くみ子 学位論文審査要旨

主 査	神 崎 晋
副主査	佐 藤 建 三
同	渡 邊 達 生

主論文

Are transcription factors NF- κ B and AP-1 involved in the ANG II-stimulated production of proinflammatory cytokines induced by LPS in dehydrated rats?

(脱水ラットのLPSによる炎症性サイトカインの産生をアンギオテンシンⅡが刺激する機序に転写因子のNF- κ BとAP-1は関与するか)

(著者：佐々木くみ子、谷口真、三好美智夫、後藤理、佐藤建三、渡邊達生)

平成17年12月 American Journal of Physiology Regulatory, Integrative, and Comparative Physiology 289巻 1599頁～1608頁

学 位 論 文 要 旨

Are transcription factors NF- κ B and AP-1 involved in the ANG II-stimulated production of proinflammatory cytokines induced by LPS in dehydrated rats?

（脱水ラットのLPSによる炎症性サイトカインの産生をアンギオテンシンⅡが刺激する機序に転写因子のNF- κ BとAP-1は関与するか）

細菌性内毒素 (LPS) により活性化されたマクロファージが、炎症性サイトカインを産生・放出し、発熱をはじめとする生体防衛反応を起こすことが知られている。一方、脱水条件下では発熱が亢進する。近年、脱水時に増加するアンギオテンシンⅡ (ANGⅡ) とアンギオテンシンⅠ型 (AT₁) 受容体が、LPSによる肝臓のinterleukin-1 (IL-1) 産生を促進する事実が発見された。したがって、ANGⅡとAT₁受容体はLPSによる炎症性サイトカインの産生を促進して発熱を亢進するものと推察される。

一方LPSは、炎症性サイトカインの転写因子であるNF- κ BやAP-1を活性化することが知られている。また、ANGⅡもマクロファージのNF- κ BとAP-1を活性化する。したがって、脱水時にANGⅡがLPSによるサイトカイン産生を刺激する機序に、これら転写因子の活性化が関与する可能性が考えられる。

本研究では、LPSによる脱水ラットの肝臓と脾臓の転写因子 (NF- κ BとAP-1) の活性化に及ぼすアンギオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬とAT₁受容体拮抗薬の効果を検討した。また、LPSによる脾臓のIL-1 β の濃度変動についても同様の検討を行った。

方 法

8週齢のオスWisterラットを使用した。脱水は、実験の24時間前から飲水を制限することにより行った。すべてのラットに薬剤投与のための静脈内（上大静脈）カテーテル手術を実験の3日前に実施した。体温測定を行ったラットには体温測定用発信機の腹腔内留置手術を実験の7日前に実施した。薬剤は、チフス菌のLPS、ACE阻害薬 (lisinopril) およびAT₁受容体拮抗薬 (losartan) を滅菌生理食塩水に溶解して用いた。実験を以下の4つに分けた。

実験1：脱水ラットにlisinopril、losartanあるいは生理食塩水を投与した30分後に生理食塩水あるいはLPSを投与した。LPS投与2時間後に脾臓を摘出した。脾臓中のIL-1 β 濃度をELISA kitで測定し、脾臓タンパク100 μ gあたりで算出した。実験2：脱水ラットに生理食塩水あるいはLPSを投与し、15分、30分、2時間後に肝臓と脾臓を摘出した。核抽出を行い、

NF- κ BとAP-1活性をelectrophoretic mobility shift assay (EMSA) 法にて定量した。実験3：脱水ラットにlisinopril、losartanあるいは生理食塩水を投与した30分後に生理食塩水あるいはLPSを投与した。LPS投与30分後に肝臓と脾臓を摘出した。NF- κ BとAP-1活性をEMSA法にて定量した。実験4：脱水ラットあるいは正常ラットのLPS発熱を比較検討した。

結 果

LPSを投与すると、脱水ラットの脾臓のIL-1 β 濃度は著明に上昇した。LPS投与30分前にlisinopril あるいはlosartanを投与した群では、LPS によるIL-1 β 反応が有意に抑制された（実験1）。LPS投与15分、30分、2時間後の肝臓と脾臓の転写因子（NF- κ BとAP-1）の活性は、時間に依存して上昇した（実験2）。LPSによる肝臓のNF- κ B活性増加は、lisinopril 及びlosartanの前投与により有意に亢進したが、脾臓では影響を受けなかった（実験3）。LPS投与後の脾臓のAP-1活性の上昇はlosartanにより亢進したが、肝臓のAP-1 活性に対してはlisinopril とlosartanは何ら効果を及ぼさなかった（実験3）。脱水ラットでは、LPS発熱が著明に亢進したので、脱水時に増加するANG IIがLPS発熱に関与することが再度示唆された（実験4）。

考 察

ACE阻害薬とAT₁受容体拮抗薬は脾臓でLPSにより上昇したIL-1 β 濃度を低下させた。同様な結果が肝臓でも確認されているので、これら臓器でのIL-1 β 産生をANG II とAT₁受容体が促進していると考えられる。しかし、LPSによる肝臓あるいは脾臓のNF- κ BとAP-1の活性化がACE阻害薬あるいはAT₁受容体拮抗薬により促進されたので、内因性のANG II とAT₁受容体は、LPS投与脱水ラットの肝臓と脾臓の転写因子の活性化を抑制するものと推察された。したがって、ANG IIがLPSによる転写因子の活性化を亢進させてIL-1 β 産生を促進させるとした当初の仮説は否定された。しかしこれまで、マクロファージでのNF- κ B活性をANG IIが亢進させることが報告されている。肝臓・脾臓などの臓器はマクロファージ系の細胞とともに複数の種類の細胞の集合体である。細胞によってANG IIの転写因子への作用が異なる可能性が想定されるので、細胞レベルでの検討が今後必要であると考えられる。

結 論

LPSによる脱水ラットの炎症性サイトカインの産生をANG IIが刺激する機序にNF- κ BとAP-1が関与するとする仮説を支持する結果は得られなかった。